



TITLE:

Human CTL-based functional analysis shows the reliability of a munc13-4 protein expression assay for FHL3 diagnosis( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Shibata, Hirofumi

---

CITATION:

Shibata, Hirofumi. Human CTL-based functional analysis shows the reliability of a munc13-4 protein expression assay for FHL3 diagnosis. 京都大学, 2019, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21635>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開

京都大学	博士（医学）	氏 名	柴田 洋史
論文題目	Human CTL-based functional analysis shows the reliability of a munc13-4 protein expression assay for FHL3 diagnosis（ヒト CTL 機能解析系を用いた、FHL3 診断における munc13-4 蛋白発現解析の信頼性評価）		
（論文内容の要旨）			
<p>血球貪食性リンパ組織球症（hemophagocytic lymphohistiocytosis: HLH）は炎症性サイトカインの過剰産生を基本病態とする致死性炎症症候群であり、遺伝子異常を原因とする原発性 HLH と、感染や膠原病などに続発する二次性 HLH とに大別される。家族性血球貪食性リンパ組織球症（familial HLH: FHL）は原発性 HLH の代表疾患であるが、根治には造血細胞移植が必須であり、早期の移植施行が予後を改善する事が知られている。しかし、造血細胞移植には大きなリスクが伴うため、迅速かつ正確な診断が必要である。</p> <p>FHL は 2/3/4/5 の 4 型に分類され、何れも細胞傷害性 T 細胞（CTL）及び Natural Killer（NK）細胞の細胞傷害活性の欠損・低下を特徴とする。FHL2 型の原因は標的細胞に細胞死を誘導する perforin 分子の異常であり、FHL3-5 型は perforin を含む細胞傷害性顆粒の放出に関わる分子の異常を原因とするが、症例の大半を 2 型と 3 型が占めるため、臨床的にはこれら 2 つの型に対する迅速診断が特に重要である。しかし、NK 細胞内 perforin 発現解析による FHL2 型の迅速診断法が確立している一方で、FHL3 型に対する信頼性の高い迅速診断法は未確立である。</p> <p>FHL3 型は munc13-4 分子をコードする <i>UNC13D</i> を責任遺伝子とし、NK 細胞や CTL の細胞傷害性顆粒の放出障害を特徴とする。FHL3 型の診断法として、フローサイトメトリーを用いた血小板内 munc13-4 蛋白発現解析が有効であるが、この方法の信頼性は十分に評価されていないのが現状である。既報告 FHL3 症例に於ける munc13-4 蛋白の発現を検証してみると、評価が行われた全症例に於いて発現低下が確認されていた。しかし、病的変異として報告されてはいるものの、munc13-4 蛋白発現や細胞傷害活性の検討が行われておらず、臨床的意義が不明な <i>UNC13D</i> ミスセンスバリエーションの存在が明らかとなった。そこで、本研究では FHL3 診断に於ける munc13-4 蛋白発現解析の信頼性の評価を行った。</p> <p>まず、2011 年から 2016 年までに HLH を発症し、遺伝性 HLH の包括的遺伝子解析と munc13-4 蛋白発現解析を行った 108 症例の結果を検討したところ、<i>UNC13D</i> の両アリルにバリエーションが確認された 15 症例全例において munc13-4 蛋白発現が低下しており、他に蛋白発現低下を認める症例は存在しなかった。更に、FHL3 患者よりアロ抗原特異的 CTL 株と Herpesvirus saimiri による不死化 CTL 株を樹立し、これらを用いた <i>UNC13D</i> バリエーションの機能評価系を確立して、既報告 <i>UNC13D</i> ミスセンスバリエーションの病原性評価を行った。その結果、細胞傷害性顆粒の放出機能と細胞傷害活性が munc13-4 蛋白の発現と相関することが確認された。</p> <p>以上の結果より、FHL3 型における <i>UNC13D</i> バリエーションの病原性は munc13-4 蛋白の発現量に強く規定されることが示され、munc13-4 蛋白発現解析による FHL3 スクリーニングの高い信頼性が確認された。</p>			

（論文審査の結果の要旨）			
家族性血球貪食性リンパ組織球症 3 型（FHL3）は細胞傷害性 T 細胞（CTL）及び Natural Killer（NK）細胞の細胞傷害活性の欠損・低下を特徴とする遺伝性疾患である。唯一の根治療法は造血細胞移植であり、迅速診断が重要だが、FHL3 型に対する信頼性の高い迅速診断法は未確立である。本研究では、FHL3 診断に於ける munc13-4 蛋白発現解析の信頼性を評価した。			
申請者は、FHL3 の責任遺伝子である <i>UNC13D</i> 遺伝子解析と munc13-4 蛋白発現解析を行った 108 症例の結果を検討し、蛋白発現解析の FHL3 診断法としての有効性を確認した。さらに、FHL3 患者よりアロ抗原特異的 CTL 株と Herpesvirus saimiri による不死化 CTL 株を樹立し、これらを用いた <i>UNC13D</i> バリエーションの機能評価系を確立して、既報告 <i>UNC13D</i> ミスセンスバリエーションの病原性評価を行った。その結果、細胞傷害性顆粒の放出機能と細胞傷害活性が munc13-4 蛋白の発現量に相関する事が明らかとなった。			
以上より、FHL3 型における <i>UNC13D</i> バリエーションの病原性は munc13-4 蛋白の発現量に強く規定されることが示され、munc13-4 蛋白発現解析による FHL3 スクリーニングの高い信頼性が確認された。			
以上の研究は家族性血球貪食性リンパ組織球症の迅速診断法の開発に貢献し、小児免疫疾患研究の発展に寄与するところが多い。			
したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。			
なお、本学位授与申請者は、平成 3 1 年 1 月 2 8 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日：                      年              月              日 以降			